



MD 4652 B1 2019.09.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală(11) **4652** (13) **B1**
(51) Int.Cl: C07F 1/08 (2006.01)
C07C 337/08 (2006.01)
C07C 47/52 (2006.01)
A61K 31/175 (2006.01)
A61K 31/30 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2018 0021 (22) Data depozit: 2018.03.22	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.09.30, BOPI nr. 9/2019
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD (72) Inventatori: BĂLAN Greta, MD; BURDUNIUC Olga, MD; ȚAPCOV Victor, MD; MITKEVICH Natalia, RU; RUDIC Valeriu, MD; GULEA Aurelian, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD	

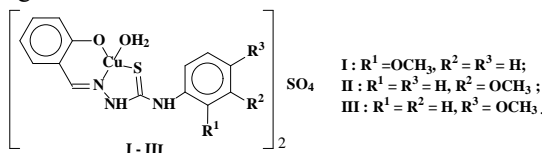
(54) **Complecșii sulfatului de cupru(II) cu 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(metoxifenil)hidrazincarbotioamide, care manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive**

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimie și medicină, și anume la un șir de compuși coordinați biologic activi ai cuprului din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acești complecși manifestă activitate bacteriostatică și bacterică înaltă față de microorganismele gram-pozitive și datorită acestor proprietăți pot găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparate antimicrobiene.

Esența invenției constă în obținerea compușilor coordinați I-III ai sulfatului de cupru(II) cu 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotioamida (I), 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(3-metoxifenil)

2
hidrazincarbotioamida (II) și 2-(2-hidroxibenziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotioamida (III) cu formula generală:



Rezultatul invenției constă în obținerea unui șir de compuși complecși, care manifestă activitate antimicrobiană bacteriostatică și bacterică față de microorganismele gram-pozitive.

Revendicări: 2

MD 4652 B1 2019.09.30

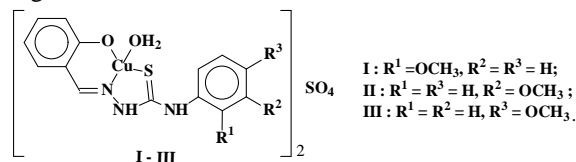
(54) Copper(II) sulfate complexes with 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(methoxyphenyl)hydrazinecarbothioamides exhibiting antimicrobial activity against gram-positive microorganisms

(57) Abstract:

The invention relates to chemistry and medicine, and concerns a series of biologically active coordination compounds of copper of the class of transition metal thiosemicarbazidates. These complexes exhibit high bacteriostatic and bactericidal activity against gram-positive microorganisms and due to these properties can be used in medicine and veterinary medicine as antimicrobial drugs.

The invention consists in producing coordination compounds I-III of copper(II) sulfate with 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(2-methoxyphenyl)hydrazinecarbothioamide (I), 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(3-methoxyphenyl)hydrazinecarbothioamide (II) and 2-(2-hydroxybenzylidene)-N-(4-

methoxyphenyl)hydrazinecarbothioamide (III) of general formula:



The result of the invention consists in the synthesis of a series of complexes exhibiting high bacteriostatic and bactericidal antimicrobial activity against gram-positive microorganisms.

Claims: 2

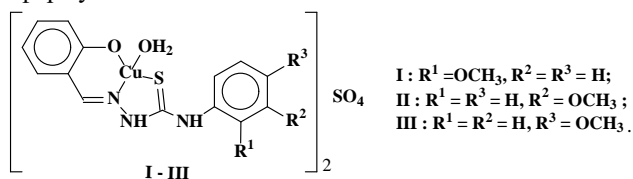
(54) Комплексы сульфата меди(II) с 2-(2-гидроксibenзилиден)-N-(метоксифенил)гидразинкарботиоамидами, проявляющие противомикробную активность в отношении грамположительных микроорганизмов

(57) Реферат:

Изобретение относится к химии и медицине и касается ряда биологически активных координационных соединений меди класса тиосемикарбазидатов переходных металлов. Эти комплексы проявляют высокую бактериостатическую и бактерицидную активность в отношении грамположительных микроорганизмов и благодаря этим свойствам могут найти применение в медицине и ветеринарии в качестве противомикробных препаратов.

Сущность изобретения заключается в получении координационных соединений I-III сульфата меди(II) с 2-(2-гидроксibenзилиден)-N-(2-метоксифенил)гидразинкарботиоамидом (I), 2-(2-гидроксibenзилиден)-N-(3-метоксифенил)

гидразинкарботиоамидом (II) и 2-(2-гидроксibenзилиден)-N-(4-метоксифенил)гидразинкарботиоамидом (III) общей формулы:



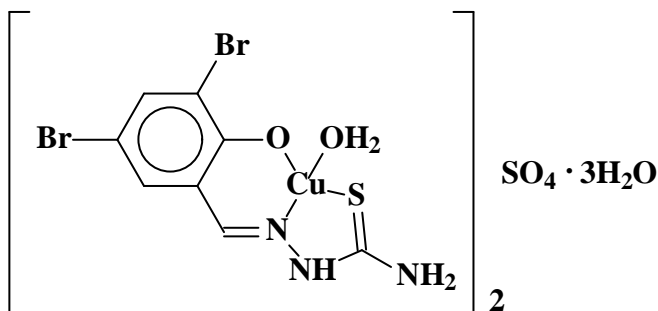
Результат изобретения заключается в синтезе ряда комплексов, проявляющих высокую бактериостатическую и бактерицидную противомикробную активность в отношении грамположительных микроорганизмов.

П. формулы: 2

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

Invenția se referă la chimie și medicină și anume, la un șir de compuși coordinativi biologic activi ai cuprului din clasa tiosemicarbazonaților metalelor de tranziție. Acești complecși manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă înaltă față de microorganismele gram-pozitive și datorită acestor proprietăți pot găsi aplicare în medicină și veterinarie în calitate de preparate antimicrobiene.

Compușii coordinativi declarați se aseamănă după structură cu trihidratul sulfatului de aqua-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru(II) (cea mai apropiată soluție și analogul structural [1]) cu formula:

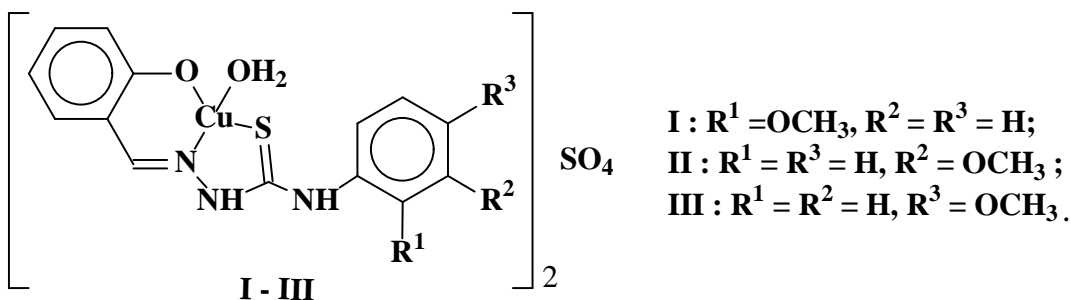


Acest compus coordinativ manifestă cea mai înaltă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive din toți compușii coordinativi biologic activi ai sulfatului de cupru(II) cu tiosemicarbazonele alchidelor salicilice substituite, descriși în literatură.

Dezavantajul complexului dat constă în faptul că el inhibă creșterea și multiplicarea numai a unor tulpini de microorganismele gram-pozitive în diapazonul concentrațiilor 0,145...1000 μg/mL și din acest motiv nu găsește aplicare în practica medicală.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea unui șir de compuși coordinativi noi, care posedă activitate mai înaltă și un spectru mai larg de acțiune antimicrobiană.

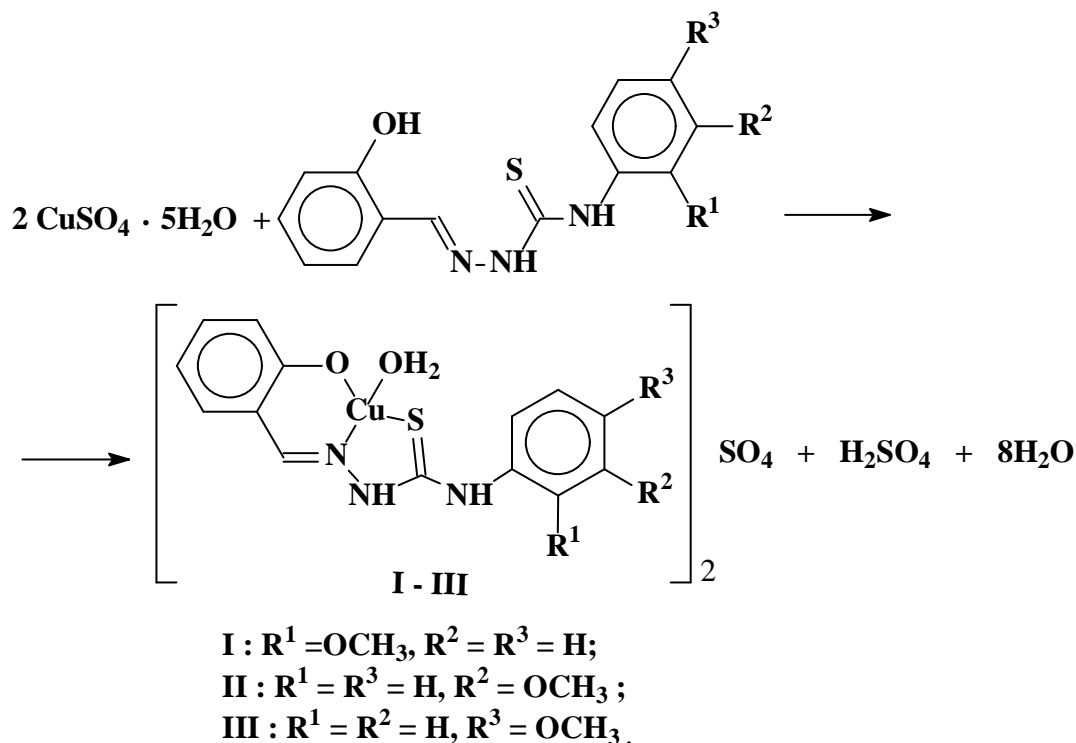
Esența invenției constă în obținerea compușilor coordinativi I-III ai sulfatului de cupru(II) cu 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamida (I), 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbotoamida (II) și 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotoamida (III) cu formula generală:



Rezultatul tehnic al invenției constă în obținerea unui șir de complecși, care manifestă activitate antimicrobiană bacteriostatică și bactericidă față de microorganismele gram-pozitive, ce depășește de 1,2...256 ori activitatea prototipului și analogului structural [1].

Rezultatul tehnic obținut se datorează faptului, că în compușii propuși în invenție se realizează o combinație nouă de legături chimice deja cunoscute.

Complecșii revendicați se obțin la interacțiunea soluțiilor apoase fierbinți (50...55°C) ale pentahidratului sulfatului de cupru(2+) cu soluția etanolică, care conține 4-(2-metoxifenil)-, 4-(3-metoxifenil)- sau 4-(4-metoxifenil)-tiosemicarbazonele alchidei salicilice luate în raport molar 1 : 1. Reacția decurge în 50...60 min conform următoarei scheme:



Mecanismul reacției date constă în adăugarea la ionul de cupru(2+) a moleculei de tiosemicarbazonă respectivă, care, față de atomul de cupru joacă rolul de ligand-O,N,S tridentat monodeprotonat. Al patrulea loc în sfera coordinativă interioară a acestui atom central este ocupat de molecula de apă. În sfera exterioară a complexului format se află un sulfat-ion.

Exemplu de obținere a sulfatului de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamido(1-)]-cupru(II). Se amestecă 30 mL de soluție etanolică, care conține 10 mmol de 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamidă (2-metoxifeniltiosemicarbazona aldehydei salicilice) cu 10 mmol de CuSO₄ · 5H₂O, dizolvat în 20 mL de apă distilată. Amestecul reactant este încălzit (50...55°C) și amestecat în permanență cu ajutorul agitatorului magnetic timp de 50...60 min. La răcire, din soluție se depun cristale mărunte de culoare verde întunecată, care sunt filtrate prin filtru de sticlă, spălate cu etanol, eter și uscate la aer.

După o metodă analogică, folosind în calitate de substanțe inițiale pentahidratul sulfatului de cupru(2+) și 4-(3-metoxifenil)- (în cazul complexului II) sau 4-(4-metoxifenil)tiosemicarbazona (în cazul complexului III) aldehydei salicilice luate în raport molar 1:1 se sintetizează compușii II și III. Denumirile lor chimice și unele caracteristici fizico-chimice sunt prezentate în tabelele 1 și 2. Complecșii revendicați sunt stabili în contact cu aerul, puțin solubili în apă și alcooli, sunt solubili în dimetilformamidă și dimetilsulfoxidă, practic insolubili în eter. Hidrazincarbotoamidele inițiale H₂L¹⁻ au fost sintetizate după metodele descrise în literatură (Saswati Dinda R., Schmiesing C., Sinn E., Patil Y. P., Nethaji M., Stoeckli-Evans H., Acharyya R. Mixed-ligand nichel(II) thiosemicarbazone complexes: Synthesis, characterization and biological evaluation. Polyhedron, 2013, vol. 50, pag. 354-363).

Cercetarea vizuală sub microscop a compușilor coordinativi sintetizați demonstrează că ei sunt omogeni. Din cauza dimensiunilor mici și absenței monocristalelor acestor complecși, pentru determinarea individualității compoziției și structurii lor au fost utilizate metoda de analiză a elementelor, spectroscopia IR și magnetochimia.

În baza determinării conductibilității electrice molare (?) ale I - III în dimetilformamidă s-a determinat (tabelul 2), că compușii sintetizați sunt electroliți tripli [$\kappa = 177 \dots 191 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$, 20°C, C_M=0,001 mol/L].

Cercetarea magnetochimică la temperatura camerei (294 K) a compușilor revendicați a demonstrat (tabelul 2), că ei posedă momente magnetice efective ($\mu_{\text{ef.}} = 1,79 \dots 2,02 \text{ m. B}$) caracteristice valorii spinice ($S = 1/2$) pentru un electron necuplat, fapt care vorbește despre structura lor monomerică.

Pentru determinarea modului de coordonare a liganzilor la ionul de cupru(2+) a fost efectuată analiza comparativă a spectrelor IR ale compușilor revendicați cu cele ale analogului lor structural [I] și a tiosemicarbazonelor inițiale. S-a stabilit (tabelul 2), că tiosemicarbazonele studiate în complecșii I

– III se comportă ca liganzi tridentati monodeprotonati, coordinand la ionul central prin intermediul atomilor de oxigen fenolic, azot azometinic și a sulfurii, formand două metalocicluri din șase și cinci atomi. În favoarea acestui fapt vorbește dispariția din spectrele IR ale substanțelor declarate și ale analogului structural a benzilor de absorbție $\nu(\text{OH})$, care în tiosemicarbazonele libere se observă în domeniul $3330...3340\text{ cm}^{-1}$. În toți complexii analizați benzile $\nu(\text{C}=\text{N})$ și $\nu(\text{C}=\text{S})$ se deplasează cu $35...25\text{ cm}^{-1}$ spre frecvențe mai mici [în tiosemicarbazonele inițiale $\nu(\text{C}=\text{N})$ se observă în domeniul $1600...1605\text{ cm}^{-1}$]. În afară de aceasta, în domeniul $550...405\text{ cm}^{-1}$ în spectrul complexilor I – III se observă o serie de benzi de absorbție noi, care conform datelor luate din literatură, se detectează ca $\nu(\text{Cu}-\text{N})$, $\nu(\text{Cu}-\text{O})$ și $\nu(\text{Cu}-\text{S})$. Sulfat-ionul în I-III se află în sferă exterioară [în domeniul $1110...1120\text{ cm}^{-1}$ se observă o singură bandă de absorbție, caracteristică acestui anion necoordonat].

Astfel, în baza rezultatelor analizei elementelor și a cercetărilor fizico-chimice a fost stabilită compoziția și structura probabilă a compușilor declarați.

Determinarea activității antimicrobiene a compușilor I-III declarați a fost efectuată în mediul nutritiv lichid [bulion peptonat din carne de 2%, pH 7,0] prin metoda diluțiilor succesive. În calitate de cultură de referință în experimentul „in vitro” au fost folosite tulpinile standard de *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, *Bacillus cereus* ГИСК 8035, *Enterococcus faecalis* și *Escherichia coli*, ATCC 25922. Dizolvarea substanțelor studiate în dimetilformamidă, cultivarea microorganismelor, obținerea suspensiei, determinarea concentrației minime de inhibare (CMI) și concentrației minimale bactericide (CMB) au fost efectuate după metoda standard, descrisă în literatură.

Rezultatele studiului activității antimicrobiene pentru I-III sunt prezentate în tabelul 3, din care se observă că compușii declarați posedă activitate bacteriostatică și bactericidă față de microorganismele gram-pozitive în limitele concentrațiilor $0,0038...62,5\text{ }\mu\text{g/mL}$ și nu manifestă activitate față de *Escherichia coli*, ATCC 25922 (reprezentantul microorganismelor gram-negative). Pentru comparație, în aceleași tabel sunt prezentate rezultatele cercetării activității antimicrobiene caracteristice tioamidelor H_2L^{1-3} inițiale și sulfatului de aqua-3,5-dibromsalicilidentiosemicarbazidocupru(II) – analogului structural al compușilor declarați [1], care manifestă cea mai înaltă activitate bacteriostatică și bactericidă față de bacteriile gram-pozitive dintre compușii coordinați ai sulfatului de cupru(2+) cu tiosemicarbazonele aldehidelor substituie, descrise în literatură. Datele experimentale obținute demonstrează, că tiosemicarbazonele inițiale H_2L^{1-3} nu manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive și gram-negative, iar compușii coordinați revendicați manifestă activitate bacteriostatică și bactericidă numai față de microorganismele gram-pozitive. După cum se vede din tabelul 3, activitatea antimicrobiană a compușilor cercetați depinde de poziția grupei metoxi în inelul fenilic al fragmentului tiocarbamidic și se schimbă conform următorului șir: *orto-* > *meta-* > *para-*.

Proprietățile depistate ale compușilor nominalizați prezintă interes din punct de vedere al extinderii arsenalului de remedii antimicrobiene și permit utilizarea acestora în cazul rezistenței microorganismelor față de medicamentele tradiționale.

Tabelul 1
DENUMIREA ȘI ANALIZA CHIMICĂ A COMPUȘILOR COORDINATIVI REVENDICAȚI

Com- pusul	Denumirea chimică	Formula brută	Randa- mentul, %	Determinat / calculat, %				
				C	H	Cu	N	S
I	Sulfatul de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamido(1-)]- cupru(II)	C ₃₀ H ₃₂ Cu ₂ N ₆ O ₁₀ S ₃	70	41,77/41,90	3,60/3,75	14,51/14,78	9,52/9,77	11,00/11,19
II	Sulfatul de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbotoamido(1-)]- cupru(II)	C ₃₀ H ₃₂ Cu ₂ N ₆ O ₁₀ S ₃	64	41,73/41,90	3,57/3,75	14,57/14,78	9,60/9,77	10,90/11,19
III	Sulfatul de aqua-[2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotoamido(1-)]- cupru(II)	C ₃₀ H ₃₂ Cu ₂ N ₆ O ₁₀ S ₃	72	41,68/41,90	3,50/3,75	14,47/14,78	9,51/9,77	10,94/11,19

5

Tabelul 2
UNELE PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE A COMPUȘILOR COORDINATIVI REVENDICAȚI

Com- pusul ^{a)}	χ^b , $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$	$\mu_{\text{ef.}}$, m. B. (293 K)	Unele benzi (cm^{-1}) de absorbție prezente în spectre IR a compușilor I – III							
			$\nu(\text{OH})$	$\nu(\text{OCH}_3)$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{NH})$	$\delta(\text{C}-\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{S})$	$\nu(\text{C}-\text{N})$	$\nu(\text{Cu}-\text{N})$, $\nu(\text{Cu}-\text{O})$, $\nu(\text{Cu}-\text{S})$
H ₂ L ¹	-	-	3332	2832	1600	1521	1197, 1152	1113	1030, 949	-
I	177	1,84	-	2831	1576	1510	1206, 1155	1077	1025, 947	567, 496, 451, 430
H ₂ L ²	-	-	3336	2832	1605	1520	1201, 1152	1118	1039, 953	-
II	189	2,02	-	2832	1575	1515	1204, 1160	1180	1020, 945	560, 477, 449, 432
H ₂ L ³	-	-	3336	2831	1600	1526	1197, 1163	1112	1032, 947	-
III	191	1,79	-	2830	1578	1517	1205, 1155	1179	1025, 947	555, 480, 450, 425

10

Notă : ^{a)} H₂L¹ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamida, H₂L² - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxifenil)hidrazincarbotoamida, H₂L³ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotoamida; ^{b)}? – Conductibilitatea electrică molară în dimetilsulfoxidă (293 K)

5

Tabelul 3

**CONCENTRAȚIA MINIMĂ DE INHIBARE (CMI) ȘI CONCENTRAȚIA BACTERICIDĂ MINIMALĂ (CBM) A
REVEDICAȚI FAȚĂ DE MICROORGANISMELE GRAM-POZITIVE ȘI GRAM-NEGATIVE ($\mu\text{g/mL}$)**

Compusul ^{a)}	<i>Staphylococcus aureus, ATCC 25923</i>		<i>Bacillus cereus ГИСК 8035</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>	
	CMI	CBM	CMI	CBM	CMI	CBM
H ₂ L ¹⁻³	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
I	0,0038	0,0075	1,95	6,91	7,81	31,25
II	0,1221	0,2441	0,98	3,91	3,91	15,63
III	0,1221	0,2441	1,95	3,91	15,63	62,50
AS	0,145	0,145	2,33	4,67	>1000	>1000

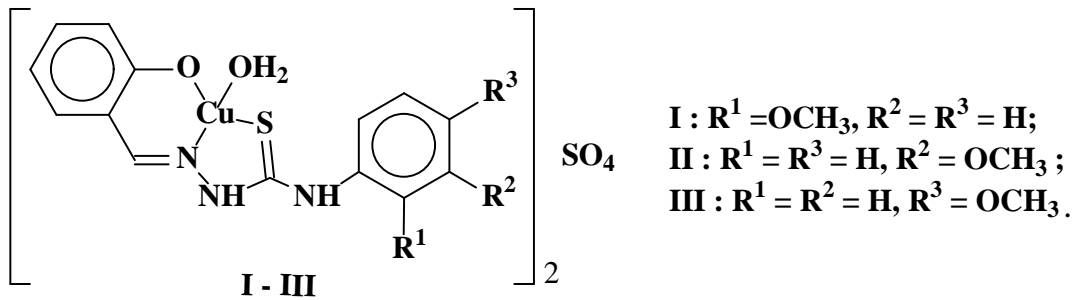
Notă : ^{a)} H₂L¹ - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(2-metoxifenil)hidrazincarbotoamida, H₂L² - 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(3-metoxi-
10 (2-hidroxi-benziliden)-N-(4-metoxifenil)hidrazincarbotoamida; AS -analogul structural.

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

1. MD 1812 B1 2001.12.31

(57) Revendicări:

1. Complecșii sulfatului de cupru(II) cu 2-(2-hidroxi-benziliden)-N-(metoxifenil)hidrazincarbotoamide cu formula generală:



2. Complecși, conform revendicării 1, care manifestă activitate antimicrobiană față de microorganismele gram-pozitive.